

## 10 Bioreaktor

Petr Kočí, Lenka Schreiberová, Milan Jahoda (revize 2016-08-23)

Lukáš Valenz, Radim Petříček (revize srpen 2017)

### I Základní vztahy a definice

Chemické reaktory jsou zařízení, v nichž probíhá chemická přeměna surovin na produkty. Vsádkové reaktory jsou charakterizovány přetržitým provozem s periodickým vstupem a výstupem reakční směsi. V průmyslu jsou využívány především při výrobě speciálních chemikálií, např. léčiv, barviv, pesticidů apod.

Reakční rychlost složky  $r_i$  je definována jako rychlost změny látkového množství složky  $n_i$  v jednotkovém objemu reakční směsi  $V$  důsledkem chemické reakce

$$r_i = \frac{1}{V} \frac{dn_i}{d\tau}, \quad (10-1)$$

kde symbol  $\tau$  označuje čas. Podělíme-li reakční rychlost složky jejím stechiometrickým koeficientem  $\nu_i$ , získáme rychlost chemické reakce

$$r = \frac{r_i}{\nu_i} = \frac{1}{V\nu_i} \frac{dn_i}{d\tau}. \quad (10-2)$$

Jestliže se v průběhu reakce nemění objem reakční směsi ( $V = \text{konst.}$ ), můžeme dosazením za látkové množství  $n_i = c_{ni}V$  do rovnice (10-2) vyjádřit rychlost chemické reakce vzhledem k molární koncentraci složky  $c_{ni}$

$$r = \frac{1}{\nu_i} \frac{dc_{ni}}{d\tau}. \quad (10-3)$$

Často používanou veličinou charakterizující změnu složení reakční směsi je konverze složky  $\zeta_i$ , která je definovaná jako podíl zreagovaného látkového množství složky  $i$  a množství, které do reakce vstupovalo

$$\zeta_i = \frac{n_{i0} - n_i}{n_{i0}}. \quad (10-4)$$

Bioreaktorem nazýváme zařízení, ve kterém přeměna výchozích látek na produkty probíhá pomocí mikroorganismů nebo biochemicky aktivních látek (např. enzymů), které byly těmito organismy vyprodukovány.

Kinetika reakcí, v nichž vystupují „klasické“ (biologicky neaktivní) látky, bývá často popisována tzv. mocninovým tvarem

$$r = k_n (c_{nA})^{\gamma_A} (c_{nB})^{\gamma_B} \dots = k_n \prod_{i=A,B,\dots} (c_{ni})^{\gamma_i}, \quad (10-5)$$

tedy jako součin rychlostní konstanty  $k_n$  a koncentrací reaktantů  $c_{ni}$  umocněných koeficienty  $\gamma_i$  (řády reakce vůči jednotlivým složkám). Pro popis rychlosti enzymatických reakcí je často třeba využít složitějších kinetických modelů. První významný posun v této oblasti nabídli v roce 1913 Leonor Michaelis a Maud Mentenová, kteří svou teorii vystavěli na několika klíčových předpokladech: (i) enzym (E) se na substrát (S) váže vratně za vzniku enzym-

substrátového komplexu (ES), který poté nevratně disociuje na produkt reakce (P) a enzym (viz schéma 10-6), (ii) celková koncentrace enzymu a enzym-substrátového komplexu se během reakce nemění.



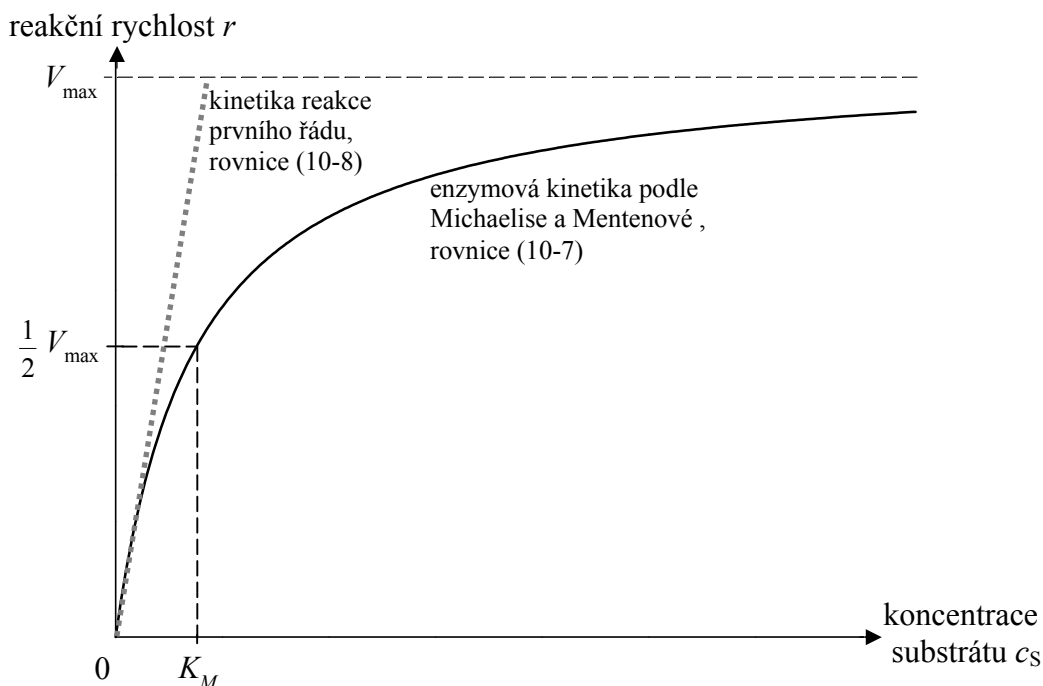
Aplikací výše uvedených principů odvodili rovnici popisující závislost rychlosti enzymatické reakce  $r$  na koncentraci substrátu  $c_S$ :

$$r = \frac{V_{\max} c_S}{K_M + c_S}, \quad (10-7)$$

kde  $V_{\max}$  je maximální (limitní) rychlost enzymatické reakce a  $K_M$  označuje Michaelisovu konstantu. Závislost reakční rychlosti  $r$  na koncentraci substrátu  $c_S$  vykazuje u enzymatické reakce podle kinetiky Michaelise-Mentenové saturační charakter, viz obr. 10-1. Při nižších koncentracích substrátu reakční rychlost závisí na  $c_S$  téměř lineárně, což odpovídá reakci prvního řádu. Je tomu tak proto, že pro koncentrace  $c_S \ll K_M$  lze koncentraci substrátu ve jmenovateli rovnice (10-7) oproti hodnotě  $K_M$  zanedbat. Potom je možné aproximovat rovnici (10-7) následujícím vztahem, který odpovídá reakci prvního řádu s rychlostní konstantou  $k = V_{\max} / K_M$ :

$$r = \frac{V_{\max}}{K_M} c_S = k c_S, \quad (10-8)$$

Při vyšších koncentracích substrátu dochází k zakřivení závislosti  $r$  na  $c_S$  (viz obrázek 10-1) a je nutné použít původní rovnici (10-7). Při velmi vysokých koncentracích substrátu ( $c_S \gg K_M$ ) přestává reakční rychlost na  $c_S$  záviset a dostává se k limitě  $r = V_{\max}$  (maximální rychlost enzymatické reakce), viz obr. 10-1.



Obr. 10-1. Závislost rychlosti enzymatické reakce na koncentraci substrátu podle kinetiky Michaelise a Mentenové (—) v porovnání s reakcí prvního řádu (---).

Pokud proces probíhá ve vsádkovém reaktoru, koncentrace substrátu uvnitř reaktoru v důsledku probíhající reakce postupně klesá. S klesající koncentrací substrátu se pak snižuje i reakční rychlost. Vývoj koncentrace substrátu  $c_S$  v čase  $\tau$  vyjadřuje následující diferenciální bilance, platná pro izotermní vsádkový reaktor s konstantním objemem reakční směsi. Bilance obsahuje pouze akumulací a zdrojový člen (vstupy a výstupy jsou ve vsádkovém reaktoru během bilancovaného období nulové):

$$\frac{dc_S}{d\tau} = -r \quad (10-9)$$

Abychom získali řešení této bilance, musíme za  $r$  dosadit závislost reakční rychlosti na proměnné koncentraci substrátu z rovnice (10-7) nebo (10-8) a integrovat. Pro nižší koncentrace substrátu, které budou používány v této práci, postačí jednodušší vztah (10-8), po jehož dosazení do (10-9), integraci a odlogaritmování dostaneme

$$c_S(\tau) = c_{S0}e^{-k\tau}, \quad (10-10)$$

kde  $c_{S0}$  je počáteční koncentrace substrátu ve vsádce a  $\tau$  čas od rozběhnutí reakce (přidání enzymu). Vztah (10-10) vyjadřuje exponenciální pokles  $c_S$  v čase a platí jak pro molární tak i pro hmotnostní koncentrace substrátu. Jeho použitelnost je však omezena na oblast, kde lze kinetiku enzymové reakce aproximovat kinetikou prvního řádu (viz obr. 10-1).

Michaelise a Mentenovou vedly k formulaci jejich modelu výsledky experimentů s hydrolyzou sacharózy, která se v přítomnosti enzymu invertázy (přesněji  $\beta$ -D-fruktofuranosidázy) štěpí na glukózu a fruktózu. Ekvimolární směs těchto dvou monosacharidů, obvykle nazývaná invertní cukr, je významnou komoditou v cukrovarnictví. Štěpení sacharózy na invertní cukr pomocí enzymu invertázy je předmětem také této laboratorní úlohy. Protože aktivita enzymů obecně velmi dramaticky závisí na teplotě a pH okolního prostředí, je třeba tyto veličiny udržovat v průběhu reakce konstantní. Enzym invertáza používaný v této práci dosahuje nejvyšší aktivity v oblasti okolo pH = 5.

Chceme-li získat informace o průběhu (bio)chemické reakce, je zapotřebí měřit v průběhu experimentu koncentraci reaktantů, resp. produktů. Vzhledem k tomu, že sacharidy jsou opticky aktivní látky, tj. jejich molekuly stáčí rovinu procházejícího polarizovaného světla, používá se na určení jejich koncentrace v roztoku nejčastěji technika zvaná polarimetrie. Polarimetr je přístroj měřící úhel, o nějž se otočila rovina polarizovaného světla při průchodu opticky aktivními látkami nebo jejich roztoky. Úhel stočení  $\alpha^{20}$  měřený při 20°C závisí na délce vzorku (resp. kvvety)  $\ell$  a hmotnostní koncentraci opticky aktivní látky  $c_i$  podle vztahu

$$\alpha^{20} = [\alpha]_{D,i}^{20} \cdot \ell \cdot c_i, \quad (10-11)$$

kde symbol  $[\alpha]_{D,i}^{20}$  označuje tzv. měrnou otáčivost (specifickou rotaci) charakteristickou pro danou opticky aktivní látku  $i$ , určenou při 20°C za použití světelného dubletu o vlnové délce 589 nm ze sodíkové výbojky. Významným a v polarimetrii hojně využívaným poznatkem je Biotovo pravidlo o aditivitě, které říká, že roztok dvou opticky aktivních látek A a B o hmotnostních koncentracích  $c_A$  a  $c_B$  vykazuje otáčivost danou algebraickým součtem příspěvků obou opticky aktivních složek:

$$\alpha^{20} = \ell \cdot ([\alpha]_{D,A}^{20} \cdot c_A + [\alpha]_{D,B}^{20} \cdot c_B) \quad (10-12)$$

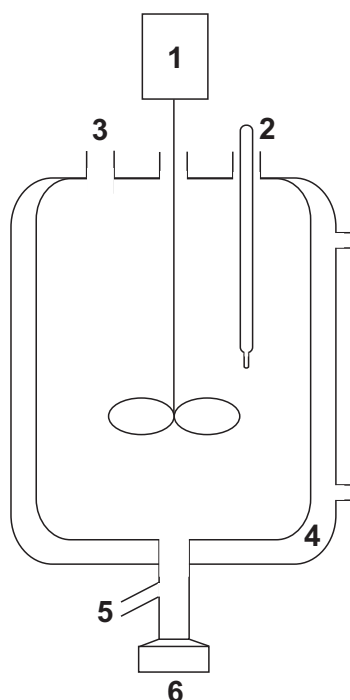
## II Cíle práce

1. Naměření optické otáčivosti reakční směsi v průběhu enzymatické reakce.
2. Výpočet koncentrace sacharózy z naměřených hodnot optické otáčivosti roztoku.
3. Sestrojení grafu závislosti konverze sacharózy na čase.
4. Sestrojení grafu závislosti koncentrace sacharózy na čase a vyhodnocení rychlostní konstanty  $k$  podle vztahu (10-10).

## III Popis zařízení

Experimentální zařízení je schématicky nakresleno na obr. 10-2. Skleněný válcový bioreaktor s temperačním pláštěm **4** je v horní části opatřen otvory. Levý otvor **3** slouží k zasazení plastové nálevky a následný vstup jednotlivých složek do reakčního prostoru. V pravém otvoru **2** je zasazen digitální snímač teploty pro kontrolu teploty reakční směsi. Snímaná hodnota teploty je aktuálně zobrazována na displeji umístěném na zdi napravo od reaktoru. Reakční směs je míchána rotačním lopatkovým míchadlem **1**. Spodní část reaktoru je opatřena otočným ventilem **6** sloužícím k odebrání vzorku a vypuštění obsahu reaktoru. Teplota reakční směsi je udržována termostatem, proud temperované vody prochází pláštěm reakční cely. Panel termostatu je blíže zobrazen a popsán na obr. 10-3.

Součástí aparatury je rovněž automatický digitální polarimetr s polarimetrickou trubicí (kyvetou) o délce  $\ell = 1$  dm, sada kádínek (skleněné a plastové), plastová nálevka, odměrné válce, stříčka, dva pětilitrové kanistry s destilovanou vodou, papírové ubrousky, digitální pH-metr a požadované chemikálie (sacharóza, enzym invertáza a pufr pro úpravu pH).



- 1 – ovládací panel míchadla
- 2 – teploměr
- 3 – vstupní otvor
- 4 – plášť reaktoru napojený na termostat
- 5 – výtokový otvor
- 6 – ventil pro ovládání výtokového otvoru

Obr. 10-2. Vsádkový bioreaktor


## IV Postup práce

### IV.1 Příprava práce

Na počátku práce je nutné se ujistit, jestli jsou síťové přívody míchačky, termostatu a polarimetru připojeny do zásuvek a zdali je zavřený otočný ventil **6** ve spodní části reaktoru. Polarimetr zapneme mechanickým spínačem umístěným na zadní straně přístroje poblíž napájecího kabelu a necháme jej minimálně 15 minut stabilizovat. Zapneme termostat pomocí zeleného spínače s podsvícením a cirkulaci vody do pláště reaktoru pomocí sousedního černého spínače. Displej na panelu termostatu zobrazuje aktuální hodnotu teploty vody v plášti reaktoru. Jedním stisknutím šipky dolů se zobrazí nastavená teplota, kterou upravíme na teplotu reakce (viz zadání v protokolu) stisknutím šipky doleva (snižování) nebo doprava (zvyšování). Potvrdíme středovým tlačítkem a stisknutím šipky nahoru přejdeme zpět na aktuální teplotu. Termostat začne vyhřívat vodu v plášti, což můžeme kontrolovat nárůstem aktuální teploty a teploty v reaktoru.

Vypočteme hmotnost sacharózy tak, aby po smíchání se 3 kg destilované vody vznikl roztok sacharózy o požadovaném hmotnostním zlomku (viz zadání v protokolu). Vypočítané množství sacharózy necháme zkontrolovat asistentem. Sacharózu navážíme do plastové kádinky a hmotnost zapíšeme do protokolu. Váhy vynulujeme a do stejné kádinky přilejeme cca 1,5 kg destilované vody, hmotnost vody zapíšeme do protokolu. Sacharózu rozpustíme a roztok vlijeme přes nálevku otvorem **3** do reaktoru. Do plastové kádinky odvážíme zbývající množství destilované vody, hmotnost vody opět zapíšeme do protokolu a vodu nalijeme do reaktoru. Při nulových otáčkách spustíme míchadlo a poté nastavíme otáčky na zadanou hodnotu (viz zadání v protokolu). V průběhu celé přípravné fáze sledujeme na samostatném displeji teplotu v reaktoru (pozor, teplota v reaktoru reaguje na změnu teploty pláště se zpožděním). Vlastní experiment je možné začít, když se teplota v reaktoru přiblíží zadané hodnotě alespoň na 1,0°C. Během čekání na ustálení teploty se budeme věnovat úpravám pH roztoku, nastavení polarimetru, přípravě roztoku enzymu a výpočtu počáteční koncentrace sacharózy v reaktoru, jak je popsáno v následujících odstavcích.

Pro optimální aktivitu enzymu je třeba upravit kyselost roztoku sacharózy v reaktoru na hodnotu okolo  $\text{pH} = 5$ . To provedeme přidáním 20 ml pufru pomocí pipety přes otvor **3**. Pufř zajistí stabilizaci pH během celého experimentu. Po úpravě pH necháme reakční směs alespoň minutu promíchat.

Před vlastním experimentem je ještě nutné nakalibrovat pozadí polarimetru na nulu. V kyvetovém prostoru zařízení se nachází prázdná polarimetrická trubice. Trubicu vyjmeme z kyvetového prostoru a několikrát vypláchneme destilovanou vodou pro odstranění případných nečistot. Poté trubicu naplníme destilovanou vodou tak, aby se v ní nenacházely bubliny a kapalina vyplňovala celou hlavní část s okénky, kudy prochází optická dráha polarimetru. Bubliny lze vypudit nakláněním trubice ze strany na stranu. Polarimetrickou trubicu umístíme do kyvetového prostoru polarimetru a zavřeme víko. Na dotykovém displeji stiskneme tlačítko  (vlevo dole), čímž se dostaneme k nabídkám nastavení polarimetru. Vybereme volbu „Blank“ a potvrdíme tlačítkem „Start“ na dotykovém displeji. Po několika sekundách se zobrazí naměřená hodnota pozadí. Pokud se hodnota výrazně liší od nuly (více

než  $\pm 0,005$ ), konzultujeme situaci s asistentem. V případě hodnoty blízké nule můžeme potvrdit měření pozadí stiskem tlačítka „Save“.

Na závěr přípravných prací požádáme asistenta o enzym. Zadané množství enzymu v miligramech navážíme na laboratorních analytických vahách a rozpustíme v 50 ml destilované vody (v odměrné baňce), kterou si také zvážíme. Pečlivě promícháme, aby byl enzym zcela rozpuštěný. Zatím enzym nepřidáváme do reaktoru !!!

Hmotnostní koncentraci sacharózy na počátku experimentu vypočteme ze známých hmotností vody a sacharózy a následně ji porovnáme s hodnotou vypočtenou dle vztahu (10-11) pro první bod měření (viz níže). Hodnoty hmotnostních koncentrací sacharózy by se neměly lišit o více než 1 %, čímž je ověřena správná funkce a kalibrace polarimetru. Hmotnostní koncentraci sacharózy na počátku experimentu vypočteme ze vztahu (10-13)

$$c_{S0} = \frac{m_S}{V_{roztok}} \quad (10-13)$$


kde  $m_S$  je navážená hmotnost sacharózy a  $V_{roztok}$  je objem směsi při dané teplotě, který vypočteme podle Amagatova zákona, který pro tuto směs v rozsahu použitých koncentrací platí, ze vztahu (10-14)

$$V_{roztok} = \frac{m_S}{\rho_S} + \frac{m_V}{\rho_V} \quad (10-14)$$

kde  $m_V$  je součet hmotností vody z prvního a druhého vážení a hmotnosti vody použité na rozpuštění enzymu,  $\rho_S = 1,587 \text{ kg} \cdot \text{dm}^{-3}$  je hustota sacharózy a  $\rho_V$  je hustota vody při teplotě v reaktoru.

## IV.2 Vlastní experiment

Měření koncentrací sacharózy a invertního cukru během reakce spočívá ve stanovení optické otáčivosti odebraného vzorku reakční směsi. Vzorek odebíráme v pravidelných časových intervalech (viz zadání v protokolu), přičemž čas reakce se počítá od okamžiku přidání enzymu do reaktoru.

Na úplném začátku experimentu ještě před přidáním enzymu propláchneme po opatrném pootvěžení ventilu **6** z výtokového otvoru **5** skleněnou kádinku roztokem sacharózy, nalijeme zpět do reaktoru a odebereme přibližně 60 ml vzorku roztoku sacharózy k analýze. Odebraným vzorkem roztoku sacharózy dvakrát propláchneme  polarimetrickou trubici a poté ji naplníme tímto vzorkem po okraj, přičemž nakláněním trubice ze strany na stranu vypudíme bubliny. Polarimetrickou trubici se vzorkem umístíme do kyvetového prostoru polarimetru, zavřeme víko a stiskneme na dotykovém displeji ikonu (v pravém dolním rohu), čímž se spustí měření otáčivosti  $\alpha$ . Po několika sekundách se na displeji objeví naměřená hodnota otáčivosti v úhlových stupních. Výsledek zaznamenáme v protokolu do kolonky  $\alpha'$ . Poté kyvetu vyjmeme, vzorek a zbytek z proplachování polarimetrické trubice vlijeme přes nálevku zpět do reaktoru. Nakonec ještě polarimetrickou trubici propláchneme nejméně dvakrát destilovanou vodou.

Poté přes plastovou nálevku nalijeme do reaktoru všechn roztoku enzymu (celých 50 ml), čímž rozběhneme reakci. Zbytky enzymu na nálevce spláchneme do reaktoru roztokem

sacharózy. Na displeji snímače teploty odečteme teplotu reakční směsi a zapíšeme ji v protokolu do kolonky měření číslo 1 (čas  $\tau=0$  min).

Prvních 30 minut stejným způsobem odebíráme a měříme vzorek reakční směsi každých 5 minut, poté následujících 70 minut odebíráme a měříme vzorek každých 10 minut, přičemž vždy do protokolu zaznamenáváme okamžitou hodnotu optické otáčivosti  $\alpha^t$  a teplotu reakční směsi  $t$  při odběru. Mezi jednotlivými odběry nikdy nesmíme opomenout propláchnout kyvetu daným vzorkem a poté oplachovat destilovanou vodou. Rovněž nezapomínáme mezi jednotlivými odběry opláchnout destilovanou vodou ani vzorkovací skleněnou kádinku.

### **IV.3 Ukončení měření**

Po odebrání posledního vzorku vypneme míchačku, termostat a polarimetr. Pokud jsme kontrolovali pH roztoku pomocí pH-metru, opláchneme ho, zakrytujeme a vypneme. Z bioreaktoru se reakční směs vypustí spodním ventilem do připravené nádoby a následně vylije do odpadní výlevky. Bioreaktor se propláchně destilovanou vodou. Polarimetrická trubice se několikrát vypláchně destilovanou vodou, osuší a umístí do kyvetového prostoru polarimetru. Vnitřní prostor polarimetru se důkladně otre suchým papírovým ubrouskem. Pokud někde v polarimetru došlo k zaschnutí cukerného roztoku, odstraníme znečištění nejprve slabě navlhčeným hadříkem a poté vytřeme dosucha papírovým ubrouskem. V umyvadle se umyje použité laboratorní vybavení, vlhkým hadrem a následně suchým ubrouskem se otrou všechna znečištěná místa.

## **V Bezpečnostní opatření**

1. Věnujeme zvýšenou pozornost při práci s pufrem a enzymem a nepoužíváme je na jiné účely, než jak je uvedeno v postupu práce.
2. S polarimetrem se zachází opatrně, dodržuje se čistota a suché prostředí v jeho okolí i kyvetovém prostoru a je nezbytné přesně dodržovat postup uvedený v návodu nebo instrukce od výrobce umístěné v prvním šuplíku pracovního stolu.
3. V případě nečinnosti nebo poškození polarimetru se přivolá asistent, je zásadně vyloučeno zasahovat do polarimetru bez odborného dohledu.
4. Při práci s polarimetrickou trubicí je potřeba být opatrný a nijak ji nepoškodit nebo nezničit. Jedná se o drahý materiál a není k dispozici náhradní kus.

## **VI Zpracování naměřených hodnot**

Obecně lze říct, že úhel stočení závisí na teplotě. Experimentálně bylo zjištěno, že ze tří cukrů (sacharóza, glukóza a fruktóza) a v rozsahu teplot používaných v této práci vykazuje významnou závislost na teplotě pouze úhel stočení pro fruktózu, což následně ovlivňuje optickou aktivitu invertního cukru. Proto budeme pro výpočet koncentrace sacharózy používat hodnotu měrné otáčivosti sacharózy při 20°C a hodnotu měrné otáčivosti invertního cukru při teplotě reakce.

Pro první bod měření (čas  $\tau = 0$  min) vypočítáme počáteční hmotnostní koncentraci připraveného roztoku sacharózy  $c_{S0}$  ( $\text{kg dm}^{-3}$ ) dle vztahu (10-11) a výsledek zapíšeme do tabulky.

Po přidavku enzymu určíme koncentraci sacharózy a vznikajícího invertního cukru na základě užití pravidla o aditivě (10-12). Hmotnostní koncentraci sacharózy po přidavku enzymu  $c_S$  vypočteme ze vztahu:

$$c_S = c_{S0} - M \cdot c_I, \quad (10-15)$$

kde  $M$  je poměr molárních hmotností sacharózy  $M_S$  ( $342 \text{ g mol}^{-1}$ ) a inverzního cukru  $M_I$  ( $360 \text{ g mol}^{-1}$ ) a  $c_I$  je hmotnostní koncentrace invertního cukru, kterou získáme dosazením rovnice (10-15) do rovnice popisující pravidlo o aditivě (10-12):

$$c_I = \frac{[\alpha]_{D,S}^{20} c_{S0} - \alpha^t}{M[\alpha]_{D,S}^{20} - [\alpha]_{D,I}^t}. \quad (10-16)$$

Invertní cukr je ekvimolární směs glukózy a fruktózy, jejichž molární hmotnosti jsou totožné. Pro koncentraci glukózy resp. fruktózy tedy platí, že

$$c_G = c_F = \frac{c_I}{2}. \quad (10-17)$$

Koncentraci sacharózy pak dopočteme podle rovnice (10-15). Hodnoty jednotlivých konstant užitých ve výše uvedených rovnicích jsou shrnuty v Tab. 1.

Sestrojíme graf koncentrace sacharózy v závislosti na čase, proložíme exponenciální funkcí a vyhodnotíme rychlostní konstantu  $k$  podle vztahu (10-10). Při nižších teplotách dosáhne enzym optimální funkce až po cca 10 min, takže první dvě nebo tři hodnoty nezahrnujeme do vyhodnocení. Naopak při vyšších teplotách probíhá reakce velmi rychle a je dosaženo vysoké konverze sacharózy již po cca 60 až 70 minutách. Za těchto podmínek již dochází ke vzniku oligosacharidů, které inhibují reakci, takže poslední přibližně 3 až 4 hodnoty nezahrnujeme do vyhodnocení.

Tab. 1 Hodnoty konstant.

Konstanta	Význam	Hodnota	Jednotka
$M$	poměr molárních koncentrací sacharózy a invertního cukru	0,95	1
$[\alpha]_{D,S}^{20}$	měrná otáčivost sacharózy při 20°C	+66,53	úhlové ° $\text{dm}^2 \text{kg}^{-1}$
$[\alpha]_{D,I}^{30}$	měrná otáčivost invertního cukru při 30°C	-17,84	úhlové ° $\text{dm}^2 \text{kg}^{-1}$
$[\alpha]_{D,I}^{35}$	měrná otáčivost invertního cukru při 35°C	-16,44	úhlové ° $\text{dm}^2 \text{kg}^{-1}$
$[\alpha]_{D,I}^{40}$	měrná otáčivost invertního cukru při 40°C	-14,88	úhlové ° $\text{dm}^2 \text{kg}^{-1}$
$[\alpha]_{D,I}^{45}$	měrná otáčivost invertního cukru při 45°C	-13,56	úhlové ° $\text{dm}^2 \text{kg}^{-1}$
$l$	délka polarimetrické trubice	1,00	dm



## VII Symboly

$\gamma_i$	mocniny rychlostní rovnice (10-5)	1
$\alpha^t$	naměřený úhel stočení při teplotě $t$	úhlové °
$[\alpha]_{D,S}^{20}$	měrná otáčivost sacharózy při 20°C	úhlové ° dm <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup>
$[\alpha]_{D,l}^t$	měrná otáčivost invertního cukru při teplotě $t$	úhlové ° dm <sup>2</sup> kg <sup>-1</sup>
$c_{ni}$	molární koncentrace složky $i$	mol dm <sup>-3</sup>
$c_i$	hmotnostní koncentrace složky $i$	kg dm <sup>-3</sup>
$c_I$	hmotnostní koncentrace invertního cukru	kg dm <sup>-3</sup>
$c_F$	hmotnostní koncentrace fruktózy	kg dm <sup>-3</sup>
$c_G$	hmotnostní koncentrace glukózy	kg dm <sup>-3</sup>
$c_S$	hmotnostní koncentrace substrátu (sacharózy)	kg dm <sup>-3</sup>
$c_{S0}$	počáteční hm. koncentrace substrátu (sacharózy)	kg dm <sup>-3</sup>
E	enzym	-
ES	enzym-substrátový komplex	-
$k_n$	obecná rychlostní konstanta chemické reakce	závisí na řádu reakce
$k$	rychlostní konstanta reakce prvního řádu	min <sup>-1</sup>
$K_M$	Michaelisova konstanta	mol dm <sup>-3</sup>
$\ell$	délka polarimetrické trubice	dm
$n_i$	látkové množství složky $i$	mol
P	produkt	-
S	substrát (sacharóza)	-
$r$	rychlost chemické reakce	mol dm <sup>-3</sup> min <sup>-1</sup>
$r_i$	reakční rychlost složky $i$	mol dm <sup>-3</sup> min <sup>-1</sup>
$\nu_i$	stechiometrický koeficient složky $i$	1
$\tau$	čas	min
$\zeta_i$	konverze složky $i$	1
$V$	objem reakční směsi	dm <sup>3</sup>
$V_{\max}$	maximální (limitní) rychlost enzymatické reakce	mol dm <sup>-3</sup> min <sup>-1</sup>

## VIII Kontrolní otázky

1. Co je cílem práce, jaké veličiny budete nastavovat a jaké měřit?
2. Jaký typ reaktoru je v laboratoři?
3. Jak připravíte reakční směs?
4. Jak upravíte pH reakční směsi?
5. K čemu slouží polarimetr?
6. Může se nastavená teplota během experimentu měnit?
7. V jakých časových intervalech budete odebírat vzorky a v jakém množství?
8. Jak se bude měnit koncentrace sacharózy v průběhu experimentu?
9. Jaký parametr charakterizující rychlost reakce vyhodnotíte z naměřených dat?